

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Biologie (BBI)



David Mužík

Modulace míšních nociceptivních mechanismů za patologických podmínek
Modulation of spinal nociceptive mechanisms under pathological conditions

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Diana Špicarová, Ph.D.
Konzultant: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 5. 5. 2021

David Mužík

.....

Poděkování

Chtěl bych poděkovat své školitelce, Mgr. Dianě Špicarové, Ph.D. za vedení mé práce, za vždy vstřícný a nápomocný přístup, trpělivost a cenné rady. Také bych chtěl poděkovat své rodině za neutuchající podporu při mém studiu.

ABSTRAKT

Bolest je nepostradatelnou složkou vrozené obrany organismu, která nám pomáhá reagovat na vzniklé nebo hrozící poškození. Jakmile bolest přetrvává i po zahojení poranění, nebo vzniká bez zjevné příčiny, sama se stává škodlivou. Nociceptivní signalizace začíná detekcí škodlivého podnětu, který při dostatečné intenzitě podráždí volná nervová zakončení na periferních výběžcích neuronů spinálních ganglií. Pokud podnět vyvolá depolarizaci plazmatické membrány a dojde ke vzniku akčního potenciálu, je nociceptivní informace o podnětu vedena slabě myelinizovanými A δ vlákny, nebo nemyelinizovanými C vlákny do zadního rohu míšního. Zde jsou lokalizovány první synapse sensorických drah, které umožňují přenos nociceptivní informace na sekundární aferentní neurony, a ty dále vedou informaci do vyšších center CNS. Synapse v zadním rohu míšním jsou klíčové pro modulaci nociceptivní signalizace, na které se významně podílí endokanabinoidní systém, zahrnující endogenní kanabinoidní látky (neboli endokanabinoidy) a jejich receptory. Za patologických podmínek jako je rozvoj neuropatické bolesti nebo neuroinflamace však dochází ke změnám exprese a funkce agonistů a receptorů endokanabinoidního systému. Tyto změny mají velký význam při vzniku a přetrvání patologických bolestivých stavů. Studium míšních mechanismů modulační nociceptivní signalizace prostřednictvím kanabinoidního receptoru 1 může být perspektivní cestou k vývoji nových analgetik.

Klíčová slova: nocicepce, bolest, periferní aferentní vlákna, ganglia zadních kořenů míšních, mícha, zadní roh míšní, neuropatie, modulační synaptického přenosu, kanabinoidní receptor 1

ABSTRACT

Pain is a crucial component of the body's innate defenses, which helps us to respond to the damage that is threatening or imminent. If the pain persists even after the injury has healed, or arises for no apparent reason, it itself becomes harmful. Nociception begins with the detection of a noxious stimulus that irritates free nerve endings on the peripheral projections of spinal ganglion neurons. If the stimulus induces depolarization of the cell and an action potential forms, information of the stimulus is conducted by thinly myelinated A δ fibers, or unmyelinated C fibers to the spinal cord dorsal horn. Here, the first synapses of sensory pathways are located, which allow the transmission of nociception to secondary afferent neurons, and these further direct the information to the higher centers of the CNS. Synapses in the dorsal horn are key to modulating nociceptive signaling, in which the endocannabinoid system, including endogenous cannabinoids and their receptors, plays a significant role. However, under pathological conditions such as the development of neuropathic pain or neuroinflammation, changes in the expression and function of agonists and receptors of the endocannabinoid system occur. These changes are of great importance in the onset and persistence of pathological pain. The study of spinal mechanisms of modulation of nociceptive signaling through CB1 receptors may be a promising way to develop new analgesics.

Key words: nociception, pain, peripheral afferent fibers, dorsal root ganglia, spinal cord, dorsal horn, neuropathy, modulation of synaptic transmission, cannabinoid receptor 1

SEZNAM ZKRATEK POUŽITÝCH V TEXTU

2-AG	2-arachidonoylglycerol	2-arachidonoylglycerol
AEA	anandamide	anandamid
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid	α -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazolpropionová kyselina
Asp	aspartate	aspartát
ATP	adenosine triphosphate	adenosintrifosfát
Ca²⁺	calcium ion	vápenatý iont
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	cyklický adenosinmonofosfát
CB1	cannabinoid receptor 1	kanabinoidní receptor 1
CB2	cannabinoid receptor 2	kanabinoidní receptor 2
CCI	chronic constriction injury	chronické podvázání nervu
CGRP	calcitonin gene-related peptide	peptid související s genem pro kalcitonin
CNS	central nervous systém	centrální nervová soustava
DGLα	diacylglycerol lipase	diacylglycerol lipáza
DRG	dorsal root ganglion	ganglion zadních kořenů míšních
EAA	excitatory amino acids	excitační aminokyseliny
FAAH	fatty-acid amide hydrolase	hydroláza amidů mastných kyselin
GABA	γ -aminobutyric acid	kyselina γ -aminomáselná
Glu	glutamate	glutamát
Gly	glycine	glycin
IAAs	inhibitory amino acid	inhibiční aminokyseliny
IASP	international association for the study of pain	mezinárodní asociace pro studium bolesti
II_o	outer Rexed lamina II	vnější Rexedova lamina II
IL-33	interleukin 33	interleukin 33
K⁺	potassium ion	draselný iont
KA	Kainate receptors	kainátové receptory
MAPK	mitogen-activated protein kinase	mitogenem aktivovaná protein kináza
MGL	Monoacylglycerol lipase	monoacylglycerol lipáza
mRNA	messenger RNA	mediátorová ribonukleová kyselina
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells	nukleární faktor kappa B
NK-1	Neurokinin 1	neurokinin 1
NKA	Neurokinin A	neurokinin A
NMDA	N-methyl-D-aspartate receptor	N-methyl-D-aspartátové receptory
NON-N	non-nociceptive	nenociceptivní
NS	nociceptive-specific	nociceptivně-specifické
PAF	peripheral afferent fibers	periferní aferentní vlákna
PAK	protein kinase A	protein kináza A
PKC	protein kinase C	protein kináza C
PLD	phospholipase D	fosfolipáza D
PNS	peripheral nervous system	periferní nervová soustava

PSL	partial sciatic nerve ligation	částečné podvázání sedacího nervu
SNL	segmental spinal nerve ligation	segmentální podvázání míšního nervu
SP	substance P	substance P
SPL	saphenous partial ligation	částečné podvázání v. saphena magna
TRP	transient receptor potential	receptor TRP
TRPA1	transient receptor potential ankyrin 1	ankyrinový receptor TRPA1
TRPM3	transient receptor potential cation channel subfamily M member 3	melaninový receptor TRPM3
TRPV1	transient receptor potential vanilloid 1	vaniloidní receptor TRPV1
VGCC	voltage-gated calcium channel	napětově řízené vápníkové kanály
WDR	wide-dynamic range	neuron s širokým dynamickým rozsahem
Δ^9-THC	Δ^9 -tetrahydrocannabinol	Δ^9 -tetrahydrokanabinol

Obsah

1. ÚVOD	1
2. NOCICEPCE A BOLEST	2
2.1. KLASIFIKACE BOLESTI	3
2.1.1. DĚLENÍ DLE DOBY TRVÁNÍ	3
2.1.2. DĚLENÍ DLE MÍSTA INDUKCE BOLESTI	4
2.1.3. DĚLENÍ DLE MECHANISMU VZNIKU	4
3. ANATOMIE BOLESTI	6
3.1. NOCICEPTIVNÍ DRÁHY	6
3.1.1. PERIFERNÍ AFERENTNÍ VLÁKNA	6
3.1.2. SPINÁLNÍ GANGLIA	8
3.1.3. MÍCHA A ŠEDÁ HMOTA MÍŠNÍ	9
3.2. GLIOVÉ BUŇKY	11
4. FYZIOLOGIE NOCICEPCE A BOLESTI	14
4.1. NOCICEPTIVNÍ SIGNALIZACE V MÍŠE	14
4.2. MODULACE NOCICEPTIVNÍ SIGNALIZACE V MÍŠE PŘI NEUROPATII	16
5. ÚLOHA KANABINOIDNÍHO RECEPTORU CB1 V MODULACI SYNAPTICKÉHO PŘENOSU V MÍŠE	16
5.1. EXPRESE KANABINOIDNÍHO RECEPTORU 1	17
5.2. FUNKČNÍ VÝZNAM CB1 RECEPTORŮ	18
5.3. ÚLOHA CB1 RECEPTORU V MÍŠNÍM SYNAPTICKÉM PŘENOSU	19
5.4. ÚLOHA CB1 RECEPTORŮ ZA PATOLOGICKÝCH PODMÍNEK	20
6. ZÁVĚR	22
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	24

1. ÚVOD

Bolest je jedním z prvních smyslových vjemů, které člověk pozná již po narození a zároveň nás provází a ovlivňuje po celý život. Bolest patří mezi základní prvky ochrany organismu, ať nás již varuje před vzniklým, probíhajícím či hrozícím poškozením tkání těla. Zároveň nám pomáhá vytvářet paměťové stopy pro budoucí ostražitost. U dětí narozených s necitlivostí k bolestivým podnětům často dochází bez povšimnutí k opakovaným vážným zraněním, které u těchto jedinců vedou až ke zkrácené délce života.

Bolest se na rozdíl od ostatních smyslových vjemů liší mírou své emotivní složky a její vnímání je ovlivněno mnoha faktory. Mezinárodní asociace pro studium bolesti (IASP – International Association for the Study of Pain) definuje bolest jako *„Nepříjemná smyslová a emocionální zkušenost spojená, nebo podobající se zkušenosti spojené se skutečným či potencionálním poškozením tkáně.“* Její vnímání je tedy vždy velmi individuální a subjektivní.

Ne vždy je však bolest prospěšná a plní svou původní fyziologickou funkci ochrany organismu. V takovém případě se k bolesti přistupuje jako k onemocnění a je nutné nalézt její původ a způsob, jak ji tlumit či zcela odstranit. Mezi takové druhy bolesti se řadí např. bolest neuropatická. Neuropatická bolest nastává, pokud dojde k poranění tkání periferních nervů nebo nervů centrální nervové soustavy.

Jedna z prvních zmínek o bádání nad podstatou bolesti pochází již ze starověkého Řecka, kdy lékař a filozof Hippokratés považoval bolest za výsledek nevyváženosti tělních tekutin. Dnes však díky pokrokům v neurovědách víme, že bolest začíná u specializovaných somatosenzitivních receptorů. Jsou to volná nervová zakončení v periferních tkáních, která reagují na škodlivé podněty. Signály z těchto receptorů jsou vedeny specifickými nervovými vlákny do zadních rohů míšních, odkud je poté část vedena do mozkových center. Zde jsou nociceptivní signály vyhodnoceny a část nociceptivní informace se s přidanou emoční složkou přetváří na bolestivý podnět, který již zpracovává naše vědomí. Vznik bolesti je složitý proces skládající se z mnoha navazujících drah a spolupracujících struktur. Může tak docházet k řadě modulacím nociceptivní signalizace, které mohou mít za následek zvýšení či snížení citlivosti na daný podnět. Mohou vést i k případnému vzniku bolesti patologické.

Tato bakalářská práce zprvu představí pojmy bolest a nocicepce a shrne dosavadní znalosti o anatomických strukturách a fyziologických procesech zapojených do tvorby a přenosu nocicepce, nociceptivní signalizace a modulace na míšní úrovni. Dále se bude zabývat dosavadními poznatky o úloze kanabinoidních receptorů (CB1) v míšním synaptickém přenosu.

2. NOCICEPCE A BOLEST

Pojem nocicepce zahrnuje podráždění volných nervových zakončení škodlivým podnětem, zakódování škodlivého podnětu ve formě elektrického signálu a jeho následný přenos. Název je odvozen od slova *nocere*, což je latinský výraz pro poškodit či ublížit. Nocicepce je neurohumorální proces začínající podrážděním specializovaných smyslových receptorů, kterými jsou volná nervová zakončení periferních výběžků neuronů spinálních ganglií (DRG neurony, *dorsal root ganglion*), často nazývané jako nociceptory. Volná nervová zakončení se po reakci na podnět depolarizují a exprimují molekuly signalizující přítomnost potenciálního poškození. Pokud depolarizace překročí práh pro vznik akčního potenciálu, je dále veden po axonech těchto primárních aferentních neuronů (Loeser a Treede, 2008). Původcem nociceptivního signálu může být jak silný chemický stimul, tak i stimul mechanický či tepelný. Vzniklý vzruch je následně veden nervovými drahami, které jsou ve své destinaci vyhodnoceny a zpracovány centrální nervovou soustavou (CNS). Tyto nervové signály spouštějí ochranné chování a smyslové podněty, které mohou být subjektivně vnímány jako bolestivé. K vnímání bolesti dochází v mozku. Nocicepce a bolest jsou oddělitelné procesy. Nocicepce nemusí vždy vyústit v bolest a stejně tak bolest může nastat bez nociceptivního signálu. Příkladem nociceptivního cití bez účasti bolesti jsou míšní reflexy, které vznikají např. v reakci na popálení ruky o horký předmět. Tento reflex probíhá bez nutnosti sestupné kontroly mozkem, ale přenáší se na míšních interneuronech. Typ bolestivého vjemu, který pocítíme po vstupu vzruchu z periferie do mozku, závisí na typu aktivovaného neuronu (Tracey, 2017). Vedle aferentního přenosu do CNS jsou nociceptivní neurony také schopny reagovat na škodlivé podněty vylučováním chemických látek z periferních nervových zakončení. Lokálně tak působí na okolní buňky skrze uvolňování váček obsahujících prozánětlivé cytokiny, neuropeptidy nebo růstové faktory. Takto nociceptorem vyvolaný zánět (tzv. *neurozánět*) se může šířit a ovlivnit další receptory vzdálené od původního místa poškození (Armstrong a Herr, 2019).

Jak již bylo řečeno v úvodu, bolest definujeme jako „*Nepříjemná smyslová a emocionální zkušenost spojená, nebo podobající se zkušenosti spojené se skutečným či potencionálním poškozením tkáně*“ (IASP, 2020). Z definice tedy vyplývá, že senzorický vjem bolesti je doplněn o citovou složku, která ovlivňuje jak fyziologické, tak i psychické procesy jedince. Z tohoto důvodu je posouzení bolesti velmi subjektivní a prahy bolesti se mohou výrazně lišit jak u různých živočišných druhů, tak i u jedinců jednoho druhu. Definice dále

zmiňuje schopnost organismu se poučit z dřívějších bolestivých zážitků. I tato osobní zkušenost může prožitek jedince výrazně ovlivnit.

Význam bolesti pro přežití jedince vystihují extrémní případy pacientů bez schopnosti bolest vnímat v důsledku vrozených neuropatií. Ti často trpí na přetrvávající nezjištěné infekce a nezáměrně se mrzačí (Axelrod a Hilz, 2003).

2.1. KLASIFIKACE BOLESTI

Pro přesnou diagnostiku a řešení příčin bolestivých stavů je nutno bolest klasifikovat, jelikož tento termín obecně označuje nepříjemné bolestivé pocity bez ohledu na původ vzniku či délkou trvání. Bolest se proto běžně kategorizuje dle následujících vlastností.

2.1.1. DĚLENÍ DLE DOBY TRVÁNÍ

Akutní bolest – její trvání je krátkodobé, mnohdy v rámci sekund, ale může přetrvávat i týdny. Je výsledkem podráždění nociceptorů po poranění tělesné tkáně. Nociceptory reagují na akutní škodlivé podněty (např. extrémní teploty, mechanické poranění nebo chemická stimulace). V případě, že škodlivý podnět přetrvává delší dobu, nociceptivní neurony začnou uvolňovat prozánětlivé látky a akutní bolest se stává bolestí zánětlivou (Armstrong a Herr, 2019). Akutní bolest působí jako silný stresor a vyvolává vyplavení katecholaminů a stresových hormonů.

Subakutní bolest – mezistupeň mezi akutní a chronickou bolestí. Její trvání je v řádu hodin až měsíců, nepřekračuje však 3 měsíce. Pokud je spojena s poraněním tkáně, tak po zahojení obvykle vymizí.

Chronická bolest – původně definovaná jako bolest, která přetrvává po normální době uzdravení (Bonica, 1953). Je to bolest dlouhodobá, mnohdy neúměrná vůči své příčině. Trvání chronické bolesti se uvažuje v rozmezí 3–6 měsíců a více. Často se však diskutuje o zbytečnosti takto dlouhého čekání na diagnózu v případě, kdy je dostatek objektivních markerů na výskyt chronické bolesti (Scholz *et al.*, 2019). Oproti akutní bolesti může bolest chronická působit bez dalších symptomů a příčiny. Chronická bolest nemá funkci varovného signálu a sama se naopak stává cílem léčby. Důležitým faktorem chronické bolesti je i vliv na psychický stav pacienta (Millan, 1999).

2.1.2. DĚLENÍ DLE MÍSTA INDUKCE BOLESTI

Bolest se dle místa indukce dělí na bolest somatickou a viscerální. **Bolest somatická** vychází z kůže, svalů, kloubů a stěn tělesných dutin, jako je stěna hrudní a břišní, tedy oblastí, které inervují míšní nebo hlavové nervy. Je ostrá a ohraničená. **Viscerální bolest** je bolest orgánů břišní a hrudní dutiny. Oproti bolesti somatické je přenášena autonomním nervstvem, je tupá, špatně ohraničitelná a může projíkovat do ostatních oblastí těla. Somatická a viscerální bolest vykazují mnoho rozdílů. A to nejen v odlišnosti pocíťovaného vjemu, ale také v neurobiologických mechanismech, které sensorický proces zprostředkovávají. Viscerální bolest je významný příznak mnoha onemocnění a jeden z nejčastějších důvodů, proč pacienti vyhledávají lékařskou pomoc. Přesto velká část dosavadních znalostí o základních mechanismech bolesti pochází z experimentálních studií somatické nocicepce. Tradiční pohled na viscerální bolest ji považuje pouze za variantu somatické bolesti (Cervero, 2010).

Viscerální bolest má klinické rysy, díky nimž je jedinečná a liší se od somatické bolesti. Jedná se o následující vlastnosti: (1) viscerální bolest není vyvolávána všemi vnitřními orgány; (2) nemusí vždy souviset s poškozením vnitřních orgánů; (3) je přenášena na jiná, často vzdálená místa; (4) je rozptýlená a špatně lokalizovatelná; (5) je doprovázen přehnanými motorickými a autonomními reflexy (Cervero a Laird, 1999). Vlastnosti (1) a (2) vycházejí z vlastností periferních nervových vláken, které inervují některé vnitřní orgány. Dále některé viscerální receptory po aktivaci nevyvolávají vědomé vnímání bolesti – například roztažení močového měchýře je bolestivé, ale řez do střeva není. Vlastnosti (3), (4) a (5) vysvětluje centrální organizace viscerálních nociceptivních mechanismů, především chybějící oddělená viscerální sensorická dráha v míše a mozku a velmi nízký podíl viscerálních aferentních vláken ve srovnání s podílem vláken somatických (Cervero, 2010).

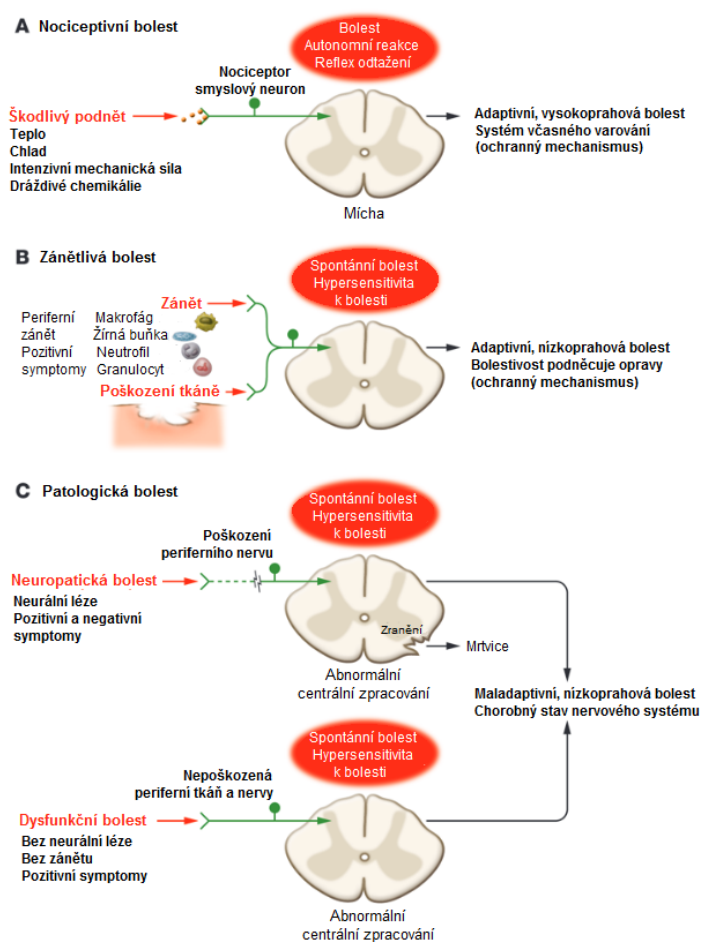
2.1.3. DĚLENÍ DLE MECHANISMU VZNIKU

Nociceptivní bolest je způsobena skutečným nebo hrozícím poškozením jiné než nervové tkáně a vzniká aktivací volných nervových zakončení odpovídajících na intenzivní stimuly. Nociceptivní bolest vzniká například při dotyku něčeho příliš horkého, studeného nebo ostrého.

Zánětlivá bolest vzniká aktivací imunitního systému infekcí nebo poškozením tkáně. Následné vyplavení prozánětlivých mediátorů jako jsou například prostaglandiny, bradykinin,

cytokiny (především interleukiny) nebo histamin, zvyšuje citlivost na bolest, čímž odrazuje od pohybu a zároveň snižuje riziko dalšího poškození. Zvýšená citlivost a vasodilatace v místě poranění tak pomáhá hojení (Woolf, 2010).

Neuropatická bolest je bolest způsobená lézí nebo onemocněním nervové soustavy. Řadí se mezi bolesti patologické, je maladaptivní a nemá ochrannou funkci. V závislosti na tom, zda se jedná o poškození periferních nervů nebo CNS se dělí neuropatická bolest na *periferní* a *centrální* (Millan, 1999). Neuropatická bolest může být následkem mnoha rozličných onemocnění. Navzdory tomu mají neuropatické bolestivé poruchy některé společné charakteristiky, jako např. bolest v oblasti s částečnou nebo úplnou ztrátou smyslového vnímání nebo pálivá bolest. V rámci neuropatických onemocnění se také často vyskytují různé typy vyvolané bolesti, jako např. zvýšená bolest po opakované stimulaci či bolest přetrvávající po stimulaci. Tyto stavy způsobené hyperexcitovanými neurony se nazývají *alodynie* (tj. bolest vyvolaná stimulem, který obvykle nezpůsobuje bolest) a *hyperalgezie* (tj. zvýšená bolestivá reakce vyvolaná stimulem, který normálně způsobuje bolest) (Jensen a Finnerup, 2014). Alodynie a hyperalgezie se velmi často vyskytuje i u zánětlivých onemocnění.



Obrázek 1 - Klasifikace bolesti Bolest lze rozdělit do tří tříd. (A) Nociceptivní bolest představuje pocit spojený s detekcí škodlivých podnětů, které mohou potenciálně poškodit tkáň. Má ochrannou funkci. (B) Zánětlivá bolest je spojena s poškozením tkáně a infiltrací imunitních buněk. Může podporovat hojení tím, že způsobí přecitlivělost na bolest, dokud nedojde k uzdravení. (C) Patologická bolest je chorobný stav způsobený poškozením nervové soustavy (neuropatická) nebo její abnormální funkcí (dysfunkční) (Převzato a upraveno dle: Woolf, 2010).

3. ANATOMIE BOLESTI

3.1. NOCICEPTIVNÍ DRÁHY

Tříneuronové senzitivní dráhy vedoucí zakódované informace o bolestivých podnětech mají svůj počátek v nociceptorech a pokračují aferentně do mozku. Na nociceptory navazují periferní aferentní vlákna (PAF), která vstupují do spinálního ganglia na zadních kořenech míšních. Ve spinálních gangliích (DRG) jsou uložena těla primárních sensorických neuronů, nazýváme je také neurony zadních kořenů míšních (DRG neurony). Kratší výběžky DRG neuronů vstupují zadním kořenem do zadního rohu míšního, kde jsou synapticky spojeny se sekundárními sensorickými neurony (neurony zadního rohu míšního). Dále je informace vedena ascendentními míšními dráhami přes mozkový kmen a thalamus do koncových kortikálních a limbických center. Přicházející signály jsou poté regulovány descendentním systémem.

V následujících podkapitolách budou popsány jednotlivé struktury zapojené do přenosu nocicepce a bolesti.

3.1.1. PERIFERNÍ AFERENTNÍ VLÁKNA

Jako periferní aferentní vlákna se označují výběžky pseudounipolárních sensorických neuronů, které jsou zakončeny volnými nervovými zakončení. Pseudounipolární buňky mají dva výběžky, periferní a centrální, který projikuje do míchy. Těla buněk těchto primárních neuronů leží v gangliích dorzálních kořenů míšních (DRG), v trigeminálních gangliích (ganglion trigeminale) a ganglion nodosum bloudivého nervu (M.D. Fishman *et al.*, 2012). Nociceptivní receptory jsou nezapouzdřená volná nervová zakončení, která vykonávají funkci vysokoprahových sensorických receptorů, schopných kódovat a transdukovat škodlivé podněty. Silné mechanické škodlivé podněty mají za následek deformaci transmembránových kanálů, což má za následek jejich otevření a vtok sodných iontů, což má za následek vznik akčního potenciálu. Škodlivé chemické molekuly se vážou přímo na receptory (Rosenow a Henderson, 2003). V případě příliš vysokých teplot zprostředkovává vznik akčního potenciálu trojice TRP (transient receptor potential) iontových kanálů - TRPM3 (Transient receptor potential cation channel subfamily M member 3), TRPV1 (transient receptor potential vanilloid 1), a TRPA1 (transient receptor potential ankyrin 1) (Vandewauw *et al.*, 2018).

Senzorická nervová vlákna mohou vést vzniklé impulsy rychlostí od 0,5 do 120 m/s. Rychlost přenosu závisí na průměru vlákna a jeho myelinizaci. Vlákna mají průměr od 0,5 do 20 μm a s průměrem neuronu se zvyšuje rychlost přenášení informace. Dle těchto vlastností se nervová vlákna dělí do dvou hlavních kategorií – typ A, tedy myelinizovaná vlákna neuronů se středně velkým a velkým průměrem, a typ C, nemyelinizovaná vlákna neuronů malého průměru (Hall, 2010).

Myelinizovaná A vlákna se dále dělí na typ A β a A δ (mezi A vlákna se řadí i A α a A γ vlákna, ty se však na transdukcii bolesti nepodílí). Tkáně jsou zpravidla inervovány několika odlišnými typy senzorických nervových vláken. A β vlákna jsou myelinizovaná a o větším průměru (6-12 μm). Mají proto vysokou rychlost vedení (30-100 m/s). Za normálních podmínek nevedou podněty pro bolest, ale slouží k přenosu impulsů ze zapouzdřených senzorických zakončení pro dotek, tlak a vibrace. Slabě myelinizovaná jsou také A δ vlákna, která mají menší průměr (1-6 μm) a jejich rychlost vedení je tak menší (5-30 m/s). A δ vlákna bolest rychle detekují a přenášejí a jsou odpovědná za rychlou, bodavou bolest, která se často označuje jako „první bolest“.

Nejmenší průměr z aferentních vláken mají C vlákna (průměr <1,5 μm), jsou nemyelinizovaná a impulsy jsou zde vedeny nejmenší rychlostí (0,5-2 m/s). Spolu s A δ vlákny inervují C vlákna jako volná nervová zakončení periferní tkáně (Rosenow a Henderson, 2003). C vláknům se připisuje zodpovědnost za tzv. „druhou bolest“, tedy špatně lokalizovatelnou pálivou bolest s pomalým nástupem vznikající s mírným zpožděním po zranění (Koltzenburg et al., 1994).

C vlákna tvoří většinu nociceptivních aferentních vláken. Dále se mohou dělit dle citlivosti k mechanickému a tepelnému stimulu. Převážná část C vláken je polymodální, tedy reagující na mechanické, chemické a tepelné podněty, což naznačuje roli při monitorování celkového stavu tkáně. Dalším typem C vláken jsou tzv. spící nebo tiché nociceptory (silent nociceptors), které nereagují ani na mechanické, ani na tepelné podněty, ale jsou senzitivizovány zánětlivými procesy (Arcilla a Tadi, 2020; Schaible a Schmidt, 1985). Po senzitivizaci se spící nociceptory stanou spontánně aktivními a jejich aktivita může být vyvolána i mírnými fyzickými stimuly podobně jako při alodynii. Spící nociceptory se nachází ve všech inervovaných tkáních (Woller et al., 2017).

Zatímco akutní bolest je adaptivní, lokální zánět a zranění často vedou ke stavu bolesti způsobeného jinak neškodnými či mírně nepříjemnými podněty (*alodynii a hyperalgezie*). Tato změna úrovně odpovědi vůči podnětu odráží dva související stavy nervové soustavy: periferní a centrální senzitivizace.

Periferní senzitivace vzniká při poranění periferní tkáně, což vyvolává hyperexcitabilitu aferentních nociceptivních neuronů. Vlivem poranění dochází v místě poranění k poškození buněk, extravazaci plazmy (únik tekutiny mimo cévní řečiště do okolní tkáně), aktivaci zakončení primárních aferentních sensorických neuronů a vniku zánětlivých buněk do místa poranění. To vše vede k uvolnění velkého množství aktivních látek, jako jsou různé aminy, lipidy, cytokiny a peptidy, jejichž receptory se na zakončeních sensorických aferentních neuronů exprimují. Aktivací těchto receptorů dochází ke zvýšení intracelulární koncentrace vápenatých iontů a depolarizaci membrány. Stimulace receptorů vede také k aktivaci intracelulárních signálních drah zahrnujících např. protein kinázy (protein kináza C, PKC; protein kináza A, PKA; mitogenem aktivovaná protein kináza MAPK). Tyto kinázy následně fosforylují membránové receptory (např. TRPV1) a iontové kanály, jako jsou např. napětově řízené sodné kanály, což může vést ke snížení prahu jejich aktivace. Výsledkem těchto signálních kaskád je zvýšená citlivost a aktivita aferentních neuronů (Woller et al., 2017).

3.1.2. SPINÁLNÍ GANGLIA

Spinální ganglia, často také uváděné jako ganglia zadních kořenů míšních (DRG), jsou nervové uzliny obsahující těla primárních sensorických neuronů a gliové buňky. DRG neurony jsou pseudounipolární buňky, jejichž delší výběžky tvoří periferní nerv a kratší výběžky vstupují zadním kořenem míšním do CNS. Přenáší tak informace z periferních tkání do zadního rohu míšního. DRG neurony obklopují gliové buňky. Povrch těl neuronů je pokryt perikaryálními výběžky jejichž růst ovlivňují okolní satelitní buňky a zvětšují tak povrch neuronů. Stav neuronů, satelitních a Schwannových buněk vzájemně ovlivňuje jejich vlastnosti, jako jsou např. růst či maturace. Je možné, že tato trofická spolupráce je jedním ze spouštěcích faktorů regenerace DRG neuronů, která je možná i u dospělých jedinců (Pannese et al., 1999). Těla DRG neuronů syntetizují látky potřebné pro funkci neuronů. Ty jsou přenášeny do periferního i centrálního zakončení pomocí axoplazmatického toku (Devor, 1999). Buňky v DRG se dělí na peptidergní a non-peptidergní neurony. Peptidergní neurony obsahují peptidy, jako je substance P (SP), peptid související s genem pro kalcitonin (CGRP, *Calcitonin gene-related peptide*) a somatostatin, zatímco non-peptidergní neurony je neexprimují (Kandel et al., 2021). Buňky DRG neuronů nejčastěji syntetizují neurotransmitter glutamát. Často exprimují i zmíněné neuropeptidy, které se jako neuromodulátory významně podílí na přenosu bolesti (Rosenow a Henderson, 2003). Mezi jednotlivými DRG neurony neexistují přímá spojení, jejich aktivita je však nepřímo modulována. Většina DRG neuronů je tak při opakované

stimulaci axonů sousedních neuronů stejného ganglia přechodně depolarizována (Amir a Devor, 1996).

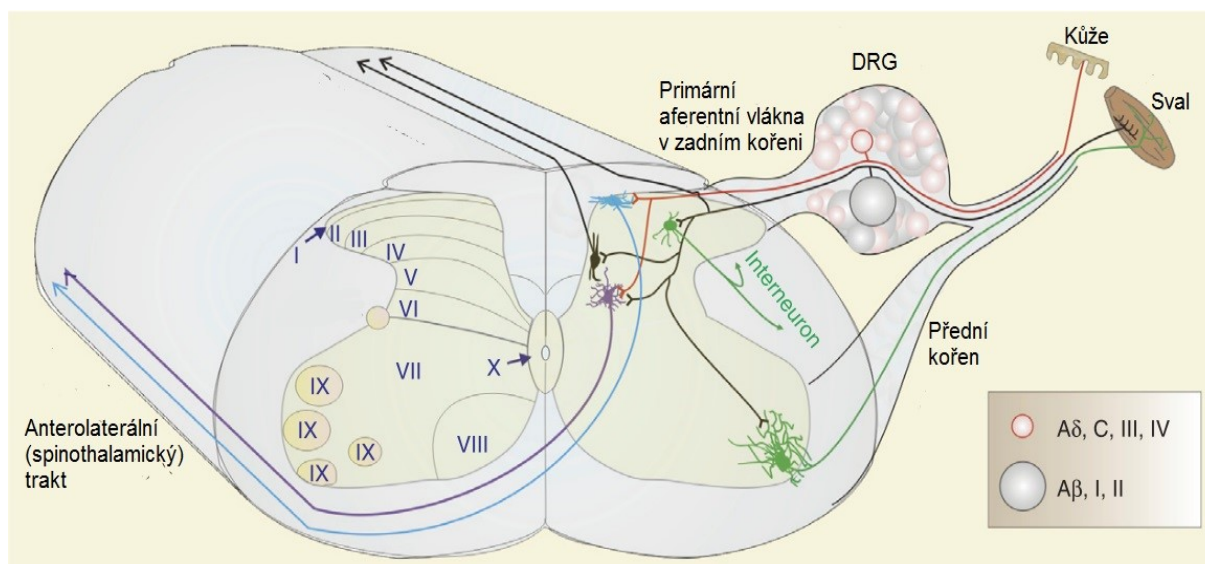
3.1.3. MÍCHA A ŠEDÁ HMOTA MÍŠNÍ

Medulla spinalis neboli páteřní mícha je nervová trubice obklopená míšními obaly, které tvoří tvrdá plena míšní (*dura mater spinalis*), arachnoidea (pavučnice) a měkká plena míšní (*pia mater spinalis*). Nachází se v páteřním kanálu (*canalis vertebralis*), který však nevyplňuje celý. V oblasti bederních obratlů L1-L2 je spolu s míšními obaly kuželovitě zakončena jako *conus medullaris* a dále pokračují volné svazky nervů v podobě *cauda equina* (útvár připomínající koňský ohon). Mícha je po své délce členěna na segmenty. Z každého segmentu vychází pár míšních nervů obsahujících senzorické, motorické a autonomní nervy. Vnější část míchy tvoří bílá hmota míšní, což jsou axony vedoucí signály do mozku, z mozku a mezi míšními segmenty (Hochman, 2007). Vnitřní část míchy tvoří šedá hmota míšní.

Šedá hmota míšní

Na příčném řezu míchou připomíná šedá hmota tvar písmene H nebo tvar motýlích křídel. Středem symetrie šedé hmoty probíhá centrální míšní kanál (*canalis centralis*), který je vyplněn mozkomíšním mokem a po obvodu obsahuje gliové buňky. Předními rohy prochází motorické dráhy do míšních nervů a nachází se zde těla motorických neuronů. Do zadních rohů vstupují skrze zadní kořeny senzorická vlákna z DRG a u většiny zde dochází k přepojení na sekundární neuron dráhy (přechod z periferního nervového systému (PNS) do CNS).

Šedá hmota se na průřezu dělí do deseti Rexedových lamin (I–X). Laminy I–IX jsou uspořádány dorzoventrálně, desátá lamina označuje buňky obklopující centrální kanál. Některé laminy přímo odpovídají umístění specifických funkčních jednotek, např. lamina II odpovídá umístění substantia gelatinosa, kde se přepojují nervová vlákna zapojených v přenosu signálů o bolestivých a tepelných podnětech (Bican et al., 2013).



Obrázek 2 - Segmentální organizace míchy

Primární senzorycké neurony, jejichž těla jsou uložena v DRG, projikují přes zadní kořeny míšní převážně na neurony zadního rohu míšního a také rostrakaudálně přes axonové dráhy bílé hmoty míšní. Mícha je rozdělena do několika vrstev nebo lamel. Laminy I – VI tvoří dorzální roh. Laminy VII – IX jsou ve ventrálním rohu (převzato a upraveno dle: Hochman, 2007).

Pro vlákna zapojená za běžných podmínek do procesu nocicepce jsou nejvýznamnější lamina I, kde se přepojuje většina Aδ vláken, a lamina II v jejíž vnější části (II_o, II outer) se nachází většina zakončení C vláken. Aδ vlákna mohou před synapsí na sekundární neuron stoupat i o 3-5 míšních segmentů a vedle laminy I projikují i do lamin II, III, IV a V. C vlákna typicky stoupají o jeden míšný segment a projikují i do lamin I, IV, V a X. Na signály přenášené Aδ a C vlákny mohou za nepatologických podmínek reagovat i ostatní laminy, které jsou bohaté spíše na Aβ vlákna (především laminy III a IV), a to díky množství interneuronů obsažených v šedé hmotě (Light et al., 1979; Kandel et al., 2021; Traub et al., 1986).

Neurony zadních rohů míšních lze dělit dle jejich odpovědi na nociceptivní signál a dle místa jejich působení. V případě odpovědi na nociceptivní signál rozlišujeme neurony na nociceptivně-specifické (NS), multireceptorové WDR (wide-dynamic range) neurony a nenociceptivní neurony (NON-N = non-nociceptive). NS neurony reagují pouze na škodlivý podnět o vysoké intenzitě přenášený Aδ a C vlákny. WDR neurony přijímají signály z kůže a svalů, ale i viscerální signály. Produkují odpověď na neškodné i škodlivé signály, jelikož zprostředkovávají odpověď na signály z Aβ i Aδ a C vláken. NON-N neurony se, jak již napovídá název, do vedení bolesti nezapojují a reagují na lehké stimuly Aβ vláken.

V druhém případě mohou být neurony děleny dle místa jejich působení na projekční neurony, které přenášejí nociceptivní informace přímo do supraspinálních center, dále na

propriospinální interneurony, které mají funkci integrační a komunikační mezi segmenty míchy. Třetím typem jsou interneurony, které přenášejí, integrují a modulují signály z PAF uvnitř a mezi lamelami šedé hmoty míšní. Interneurony mohou v modulaci působit excitačně i inhibičně (Millan, 1999).

Ascendentní dráhy

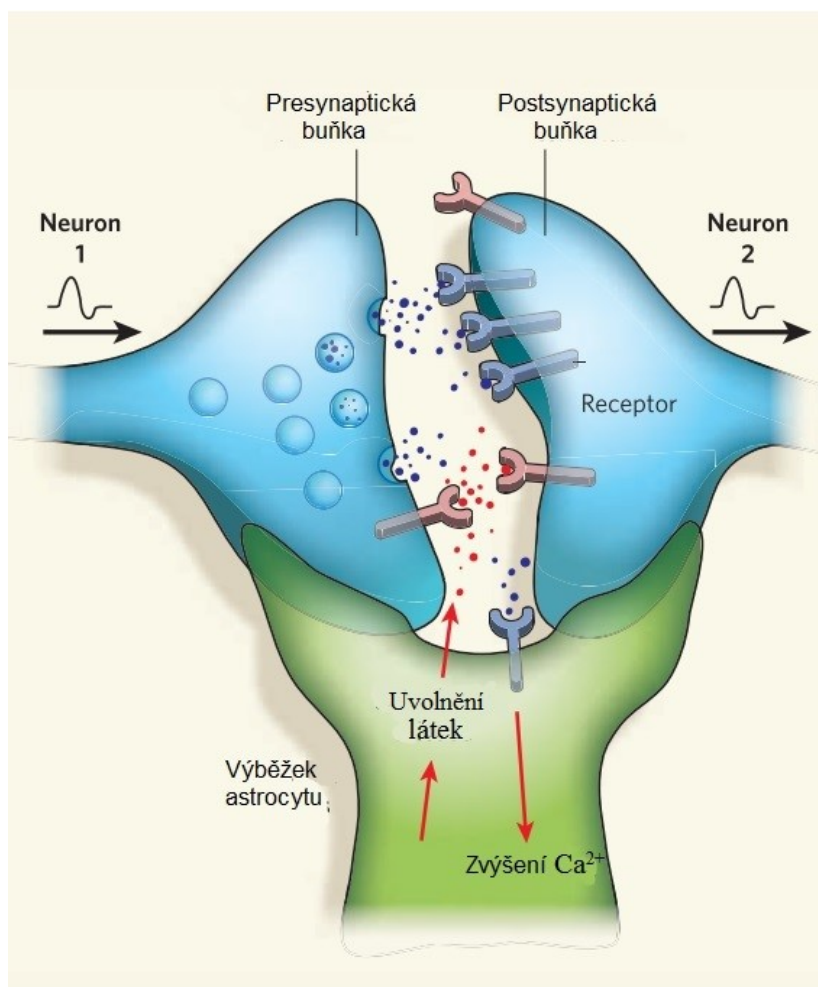
Po zpracování nociceptivní informace v zadním rohu míšním musí být signály přeneseny do mozku, kde se aktivují příslušné systémy pro jejich vyhodnocení a následný vznik pocitů spojených s bolestí. Následuje reakce organismu a aktivace sestupných drah modifikujících další nocicepci. Z hlediska přenosu nociceptivních signálů jsou pro člověka nejdůležitější dráhy nacházející se v anterolaterální části bílé hmoty míšní (Willis, 1985). Mezi hlavní vzestupné dráhy přispívající ke zpracování nociceptivní informace patří spinothalamický a spinoretikulární trakt. Spinothalamický trakt je kritický pro přenos nociceptivních signálů, které jsou zpracovávány vědomě. Obsahuje vlákna vycházející z lamin I a V-VII, zahrnuje specificky nociceptivní, termosenzitivní i WDR neurony směřující do thalamu. Neurony pocházející z laminy I zaujímají více než 50 % všech míšních projekcí v thalamu. Neurony spinoretikulárního traktu pochází především z lamin V, VII-VIII, ale částečně také I a X. Tato dráha má oproti spinothalamickému traktu čtyři neurony a nesměruje přímo do thalamu, ale nejprve se přepojuje v retikulární formaci. Spinoretikulární trakt se účastní na emoční složce bolesti a pozornosti ke zranění (Kevetter et al., 1982; Bowsher, 1976; Kandel et al., 2021).

3.2. GLIOVÉ BUŇKY

Spolu s neurony jsou velmi důležitou součástí nervové soustavy gliové buňky, které počtem buněk nad neurony násobně převažují. Tradičně připisovanou funkcí gliových buněk je podpora a výživa neuronů, neuroglie se dále podílí na stavbě, funkci a adaptaci nervových spojení a sítí a jsou součástí imunitního systému. Gliové buňky jsou rozličné morfologií, funkcí i umístěním. Většina glií má s neurony společný původ z neuroektodermu. Odlišné jsou v tomto hledisku **mikroglie**, které mají mesodermální původ. Jsou to buňky imunitního systému, monitorující poškození či infekci v mozku. Dále v průběhu vývoje nervového systému remodelují pomocí fagocytózy nevhodně formované synapse (Allen NJ a Barres BA, 2009; Kandel et al., 2021). Míšní mikroglie jsou hlavní složkou brzké gliové odpovědi CNS na poškození periferního nervu, následkem čehož se aktivují astrocyty a jejich proliferace (Scholz a Woolf, 2007). Mohou také významně přispívat ke vzniku neuropatické bolesti. Bylo ukázáno,

že aktivované mikroglie výrazně zvyšují expresi množství genů, koncentraci signálních a bioaktivních molekul (jako například MAPKs a prozánětlivé cytokiny a neurotrofní faktory), které mají za následek hyperexcitabilitu nociceptivních neuronů v zadním rohu míšním (Tsuda, 2016).

Dalšími typy gliových buněk nacházejících se v CNS jsou ependymové buňky, astrocyty a oligodendrocyty. **Astrocyty** byly pojmenované podle svého nepravidelného, hvězdčovitého tvaru těla s mnoha výběžky. Dělí se na dva typy, protoplazmatické astrocyty nacházející se v šedé hmotě a fibrózní astrocyty nacházející se v bílé hmotě. Astrocyty výrazně přispívají funkci neuronů, udržují mozkovou homeostázu zásobením neuronů energií a substráty pro synaptický přenos. Slouží jako fyzická bariéra mezi sousedními neurony a odstraňují přebytečné neurotransmitery a ionty z okolí (především nadbytečný K^+), čímž udržují přesnost zakódovaného signálu. Pomocí svých výběžků přímo komunikují s neurony, čímž pomáhají formovat a modulovat synapse a zároveň ovlivňují průtok krve ve vztahu k aktivitě neuronů a jejich potřebě po živinách. Uvažuje se i funkce přeměny glukózy na laktát, který poté přenáší do neuronů, kde je po přeměně na pyruvát využit jako zdroj ATP (Allen NJ a Barres BA, 2009; Kandel et al., 2021). V případě, že dojde k poškození nervu, astrocyty projdou řadou změn, které mají za následek zvýšenou citlivost k bolesti. Astrocyty např. ztratí schopnost udržovat koncentraci extracelulárního draslíku a glutamátu, což způsobí hyperexcitabilitu neuronů (Ji et al., 2013). Astrocyty mohou také přímo ovlivňovat okolní neurony přes mezerové spoje (gap junctions). Tato parakrinní modulace má za následek zvýšené množství uvolněného glutamátu, ATP a chemotaktických cytokinů, které mohou modulovat synaptický přenos bolestivých signálů (Chen et al., 2014). Modulace způsobené astrocyty mají oproti modulacím mikroglie tendenci přetrvávat po delší dobu, což přispívá k rozvoji chronické bolesti (Ji et al., 2013).



Obrázek 3 – Vliv astrocytů na funkci neuronů

Astrocyty exprimují velké množství stejných receptorů jako neurony. Když jsou z presynaptického zakončení neuronu uvolňovány neurotransmitery, jsou aktivovány i receptory astrocytů, což vede ke zvýšení koncentrace iontů vápníku v astrocytu a uvolňování různých účinných látek, např. ATP, které zpětně působí na neurony, aby buď inhibovaly nebo zvýšily neuronální aktivitu. Astrocyty také uvolňují proteiny, které řídí tvorbu synapsí, regulují presynaptickou funkci a modulují reakci postsynaptického neuronu na neurotransmitery (převzato a upraveno dle: Allen NJ a Barres BA, 2009).

Ependymové buňky se nachází ve výstelce mozkových komor a míšního kanálu. Jako součást choroidního plexu (*plexus chorioideus*) vytváří mozkomíšní mok a pomáhají s jeho cirkulací, do modulační bolesti se však nezapojují.

Oligodendrocyty jsou zásadní pro udržení přenosové rychlosti neuronů CNS. Vytvářejí myelin, což je na lipidy bohatá membrána obklopující a izolující axony, čímž umožňuje urychlení přenosu vzruchů neuronem (Allen NJ a Barres BA, 2009). Například v modelu neuropatické bolesti způsobené poraněním nervu chronickou konstrikcí (podvázáním se naruší vnější vrstva nervu) bylo prokázáno, že IL-33 (interleukin 33) odvozený od oligodendrocytů přispívá k bolestivé hypersenzitivitě spuštěním MAP kináz a NF-κB (nukleární faktor kappa B) a produkcí cytokinů (Zarpelon et al., 2016).

Schwannovy buňky jsou obdobou oligodendrocytů v PNS. Na rozdíl od oligodendrocytů, kdy jedna buňka obklopuje 30 axonálních segmentů, jedna Schwannova buňka obklopuje jeden axonální segment. Stejně jako oligodendrocyty urychlují přenosovou rychlost axonu myelinizací a segregací iontových kanálů citlivých na napětí do Ranvierových zářezů (Kandel et al., 2021). Demyelinizace způsobená poškozením oligodendrocytů nebo Schwannových buněk může vést k vážným chorobám, jako je např. roztroušená skleróza nebo senzomotorickým neuropatiím (Allen NJ a Barres BA, 2009).

Další formou glií v PNS jsou **satelitní buňky**, které obklopují těla DRG neuronů. Funkcí mohou být považované za ekvivalent astrocytů v PNS (Scholz a Woolf, 2007). Vliv glií v PNS na modulaci bolesti je obdobný jako u glií v CNS. V reakci na poranění periferního nervu a bolestivý stimul se díky své poloze aktivují dříve než centrální gliové buňky a uvolní prozánětlivé látky. Schwannovy buňky senzitivizují axony, které obklopují a satelitní buňky senzitivizují těla neuronů (Ji et al., 2016).

4. FYZIOLOGIE NOCICEPCE A BOLESTI

4.1. NOCICEPTIVNÍ SIGNALIZACE V MÍŠE

Pro přenos informace z jednoho neuronu na druhý je nutné specializované spojení zvané synapse. Synapse lze dělit na dva základní typy: elektrická a chemická. Elektrickou synapsi využívají především neurony, které potřebují vysílat rychlé depolarizační signály stejného typu. Oproti tomu chemické synapse jsou schopné různorodé a komplexnější signalizace. Mohou v postsynaptické buňce zprostředkovávat jak excitační, tak inhibiční působení. Tyto změny mohou v buňce působit v rámci milisekund až minut. Chemické synapse také slouží k zesílení nervového signálu, aby i malá presynaptická buňka mohla vyvolat změnu v odpovědi větší postsynaptické buňky.

Neurony využívající chemické synapse nemají oproti elektrickým synapsím nikterak propojenou buňku presynaptickou s buňkou postsynaptickou. K zprostředkování přenosu proto potřebují speciální chemické látky zvané neurotransmitery. V přítomnosti akčního potenciálu začne presynaptická buňka z aktivní zóny uvolňovat neurotransmitter, který difunduje synaptickou šterbinou k postsynaptické buňce, kde interaguje s membránovými receptory. Vlivem akčního potenciálu se v aktivní zóně otevřou napětově ovládané Ca^{2+} kanály, které umožní vstup vápenatých iontů do presynaptického zakončení. Zvýšená intracelulární

koncentrace Ca^{2+} spustí reakci, která zapříčiní splynutí transportních váček s presynaptickou membránou a následné uvolnění neurotransmiteru do synaptické štěrbin. Následné navázání neurotransmiteru a aktivace receptorů postsynaptické buňky způsobí otevření nebo zavření jejích iontových kanálů, což vede ke změně ve vodivosti postsynaptické membrány a jejího potenciálu. Neurotransmitery mohou být jak excitační, tak inhibiční (Kandel et al., 2021).

NEUROTRANSMITERY A MÍŠNÍ RECEPTORY

Excitační aminokyseliny (EAAs) – mezi hlavní excitační aminokyseliny CNS patří L-glutamát (Glu), který je hlavním excitačním neurotransmiterem v CNS, a L-aspartát (Asp). EAAs aktivují ionotropní a metabotropní receptory. Ionotropní glutamátové receptory zahrnují N-methyl-D-aspartátové receptory (NMDA), α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionátové receptory (AMPA) a kainátové receptory (KA). Ionotropní receptory přímo regulují otevírání sodíkových, draselných a vápenatých kanálů. NMDA receptory potřebují ke své aktivaci extracelulární glycin a v závislosti na membránovém potenciálu jsou blokovány hořečnatými ionty (k jejichž uvolnění může dojít aktivací AMPA receptorů). Metabotropní receptory jsou spřažené s G proteiny. Jejich aktivace indukuje uvolnění vápenatých iontů z intracelulárních zásob (Budai, 2000; Kandel et al., 2021).

Inhibiční aminokyseliny (IAAs) – do této skupiny patří γ -aminomáselná kyselina (GABA), hlavní inhibiční neurotransmitter nervové soustavy, a glycin (Gly). Jejich inhibiční činnost spočívá v umožnění vstupu chloridových iontů do buňky, čímž způsobí hyperpolarizaci buňky. Jsou známy tři GABAergní receptory: GABA_A , GABA_B a GABA_C . GABA_B je jediný metabotropní receptor (Budai, 2000). Glycinové receptory se dělí na citlivé a necitlivé ke strychninu, což je jejich antagonist, který *in vivo* způsobuje křeče (Larson a Beitz, 1988).

Neuropeptidy – do této skupiny patří především tachikinin substance P (SP) a neurokinin A (NKA). SP se nachází spolu s EAAs na centrálních zakončeních primárních aferentních vláken, což napovídá o jejich vzájemné interakci. Při výlevu SP často dochází rovněž k výlevu CGRP. Tyto neuropeptidy jako neuromodulátory dlouhodobě zesilují odpověď neuronů zadního rohu míšního na EAAs, což výrazně zesiluje odpověď na škodlivé i neškodlivé podněty z periferie. Stejně jako SP se NKA nachází na centrálních zakončeních primárních aferentních vláken. Neurokininové receptory se dělí na tři kategorie: NK-1, NK-2 a NK-3. NK-1 a NK-2 zprostředkovávají působení SP na míchu (Budai, 2000).

Výše jsou popsány pouze hlavní neurotransmitery a vybrané neuromodulátory podílející se na synaptickém přenosu na míšní úrovni.

4.2. MODULACE NOCICEPTIVNÍ SIGNALIZACE V MÍŠE PŘI NEUROPATII

Významným mechanismem v neuropatických postiženích CNS je centrální senzitivace. Centrální senzitivace je zvýšená citlivost neuronů zadního rohu míšního na signály přicházející z aferentních vláken. Při trvalém poranění C vlákna opakovaně generují akční potenciály, na které se odpověď neuronů zadního rohu míšního postupně zvyšuje. Postupné zvyšování dráždivosti neuronů se nazývá jako tzv. „wind-up“ neboli postupné načítání po sobě přicházejících signálů. Tyto změny v odpovědi neuronů zadního rohu na nociceptivní signály jsou dlouhodobé a v podstatě tvoří jakousi paměť vlastností impulsů C vláken (Kandel et al., 2021). Dva z hlavních mechanismů spojených s centrální senzitivací je hypersenzitivita vyvolaná glutamátovými NMDA receptory a ztráta inhibiční kontroly inhibičními aminokyselinami.

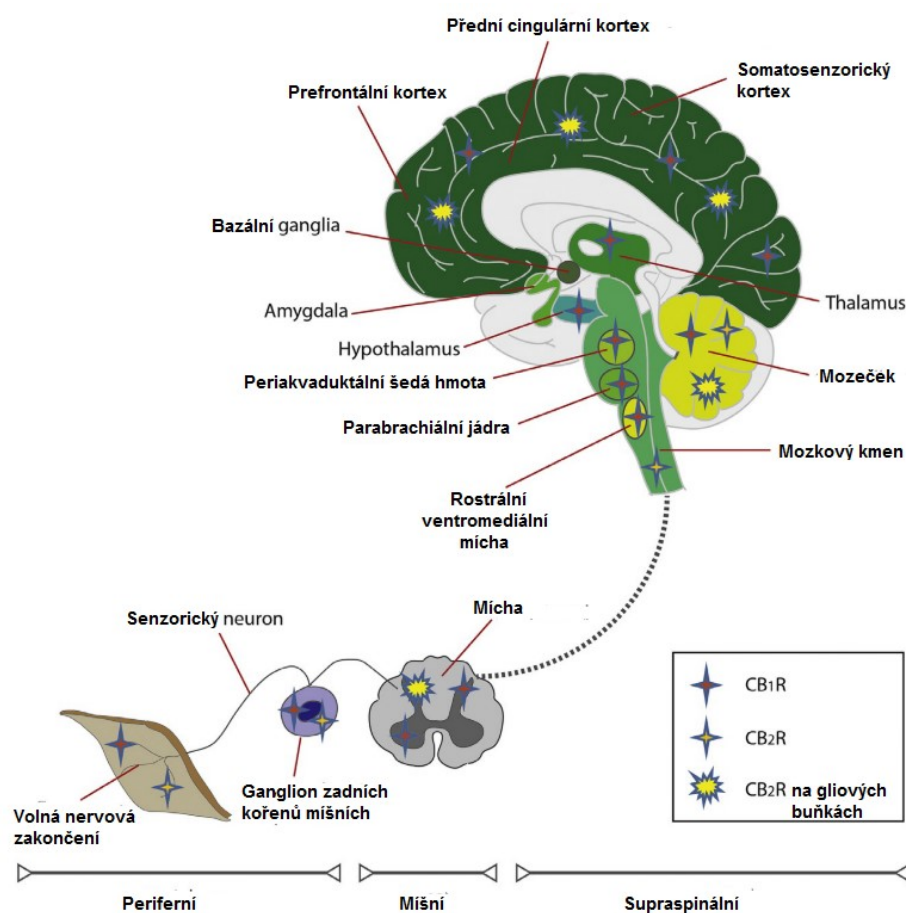
Za běžných podmínek akutní bolesti aktivuje glutamátová excitační signalizace AMPA a kainátové ionotropní receptory postsynaptické buňky. Za takových podmínek jsou NMDA glutamátové receptory neaktivní. V případě zranění periferního nervu se však zvýší množství uvolněného neurotransmiteru, které je dostatečně vysoké k depolarizaci postsynaptického neuronu a aktivaci NMDA receptorů. Aktivace NMDA receptorů způsobí otevření Ca^{2+} kanálů a následný vtok vápenatých iontů, účinnost synapse se tak výrazně zesílí. Tím se zvýší odpověď na přicházející škodlivé stimuly, což má za následek vznik primární hyperalgesie (Basbaum et al., 2009). Centrální senzitivace je velmi komplexní proces, na kterém se podílí celá řada presynaptických i postsynaptických modulačních mechanismů.

5. ÚLOHA KANABINOIDNÍHO RECEPTORU CB1 V MODULACI SYNAPTICKÉHO PŘENOSU V MÍŠE

Endokanabinoidní systém je součástí širokého spektra fyziologických funkcí a významně ovlivňuje fyziologii i patologii centrální a periferní nervové soustavy. Endokanabinoidní systém je také významně zapojen v modulaci nocicepce a zánětlivých procesů. Z těchto důvodů se stal předmětem rozsáhlého výzkumu léčiv na bázi kanabinoidů. V rámci endokanabinoidního systému jsou známy dva receptory – kanabinoidní receptor 1 (CB1) a kanabinoidní receptor 2 (CB2), do systému jsou však zapojeny i receptory z jiných skupin, které reagují na kanabinoidy.

5.1. EXPRESE KANABINOIDNÍHO RECEPTORU 1

Kanabinoidní receptor 1 se řadí do skupiny receptorů spřažených s G proteiny, převážně se skupinou G_i/G_o proteinů a sdílí s nimi svou strukturu, tedy sedm transmembránových domén spojených třemi extracelulárními a třemi intracelulárními smyčkami s extracelulárním N-koncem a intracelulárním C-koncem. Kanabinoidní receptory aktivují tři hlavní skupiny chemických látek, a to 1) kanabinoidy: Δ^9 -THC (Δ^9 -tetrahydrocannabinol) a v menší míře kanabinol, 2) eikosanoidy: např. anandamid (AEA) a 2-arachidonoylglycerol (2-AG), a 3) syntetické látky, jako jsou např. analogy kanabinoidů a aminoalkylindoly (Iannotti et al., 2016).

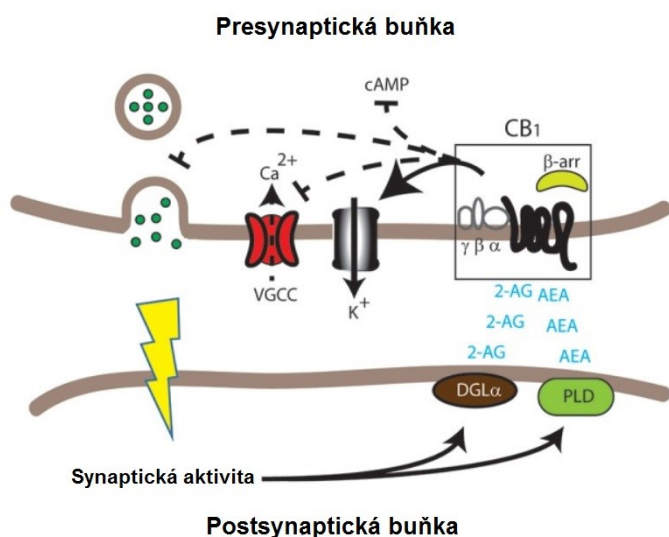


Obrázek 4 – Expres kanabinoidních receptorů v nociceptivních signalizačních drahách
Kanabinoidní receptory se vyskytují na všech třech úrovních zpracování bolestivých podnětů: (A) V periférii: CB1 i CB2 receptory jsou exprimovány na volných nervových zakončeních i na neuronech DRG; (B) Na míšní úrovni: CB1 receptory se nachází v dorzolaterálním funikulu v okolí centrálního kanálu a v superficiální oblasti zadního rohu míšního. CB2 jsou exprimovány na gliových buňkách vyskytujících se v míše; (C) V supraspinálních oblastech: CB1 se vyskytují v oblastech mozku, které jsou součástí zpracování bolestivých podnětů, jejich vnímání a modulaci. Vyskytují se také v bazálních gangliích, hypothalamu a mozečku. Expres CB1 a CB2 receptorů v oblastech účastnících se zpracování, přenosu, vnímání a modulace bolestivých podnětů poskytuje anatomický základ pro schopnost jejich agonistů zmírňovat bolestivé stavy (převzato a upraveno dle: Starowicz a Finn, 2017).

CB1 receptory se nachází především v mozku, kde jsou nejzastoupenějším receptorem spřaženým s G proteiny (Herkenham et al., 1990). Významná je také exprese CB1 v šedé hmotě míšní, DRG a periferních výběžcích DRG neuronů. V míše se CB1 nachází presynapticky na centrálních zakončeních DRG neuronů a míšních inhibičních neuronů (Irving et al., 2000). Pomocí histochemických metod lokalizace exprimované CB1 mRNA bylo prokázáno, že DRG neurony syntetizují CB1 receptory, které mohou být poté transportovány do centrálního i distálního periferního zakončení, umožňující tak modulaci signálů vedených z PAF (Hohmann a Herkenham, 1999). Velké množství CB1 receptorů se nachází především na tělech DRG neuronů (Sañudo-Peña et al., 1999). Pro lokalizaci v šedé hmotě míchy byly využity protilátky vázající se na N-konec receptoru. Výsledkem byl nález CB1 receptorů v zadním rohu míšním a v lamině X v okolí centrálního kanálu (Tsou et al., 1998). Výskyt receptorů převážně v laminách I a II odpovídá jejich působení při modulaci nocicepce (Farquhar-Smith et al., 2000). Množství receptorů detekovaných v míše bylo výrazně nižší než množství v DRG. Receptory se nachází také v motorických ventrálních rožích, kde působí na snížení svalového napětí (Sañudo-Peña et al., 1999).

5.2. FUNKČNÍ VÝZNAM CB1 RECEPTORŮ

Významnou funkcí CB1 receptorů je schopnost inhibovat uvolnění neurotransmiterů. Většina endokanabinoidů jsou retrográdní modulatory, které jsou syntetizovány v postsynaptické buňce, odkud se uvolňují do synaptického spojení, kde interagují s CB1 receptory na plazmatické membráně presynaptické buňky (Freund et al., 2003). Endokanabinoidy jsou postsynaptickou buňkou přímo syntetizovány a uvolňovány v reakci na silný nervový stimul v podobě akutně zvýšené hladiny vápenatých iontů (Ohno-Shosaku et al., 2001). Po aktivaci receptory modulují aktivitu vápenatých kanálů, které zprostředkovávají uvolnění neurotransmiterů. Kanabinoidní receptory jsou G_i/G_o proteiny negativně vázány s adenylát cyklázou, jejíž aktivace inhibuje vápenaté kanály a aktivuje otevření draselných kanálů, které dále působí na uzavření vápenatých kanálů a snížení výlevu neurotransmiterů (shrnutí v Pertwee, 1997). Aktivace CB1 receptorů tak může aktivně inhibovat zvýšenou aktivitu neuronů a v rámci nocicepce a bolesti působí antinocicepčně a analgeticky.



Obrázek 5 – Funkce CB1 v inhibici synapse. Klíčové enzymy, jako je diacylglycerol lipáza (DGLα) a fosfolipáza D (PLD), produkují endogenní kanabinoidy anandamid (AEA) a 2-arachidonylglycerol (2-AG). Ty aktivují CB1 receptory, které následně moduluji aktivitu adenylátcyklázy. Ta poté inhibuje akumulaci cAMP, napěťově řízené vápníkové kanály (VGCC), K⁺ kanály a uvolňování neurotransmiteru v presynaptických buňkách (převzato a upraveno dle: Kendall a Yudowski, 2017)

5.3. ÚLOHA CB1 RECEPTORU V MÍŠNÍM SYNAPTICKÉM PŘENOSU

Jak již bylo zmíněno v kapitole o anatomii struktur zapojených do bolestivých drah, klíčovou oblastí pro přenos bolesti v míše je zadní roh míšního. Zde probíhá přepojení signálů z primárních neuronů na neurony sekundární a zároveň zde probíhá jejich modulace signály z vyšších oblastí CNS. Studie zabývající se zapojením kanabinoidů a kanabinoidních receptorů v přenosu těchto signálů na míšní úrovni dokládají, že intratekální podávání kanabinoidů má antinociceptivní účinek (Yaksh, 1981). Dále bylo zjištěno, že blokování míšních CB1 receptorů naopak vyvolává hyperalgesii a zesiluje aktivitu WDR neuronů způsobenou nociceptivními signály, potvrzující tak významnou roli v míšní signalizaci (Richardson et al., 1997; Chapman, 1999).

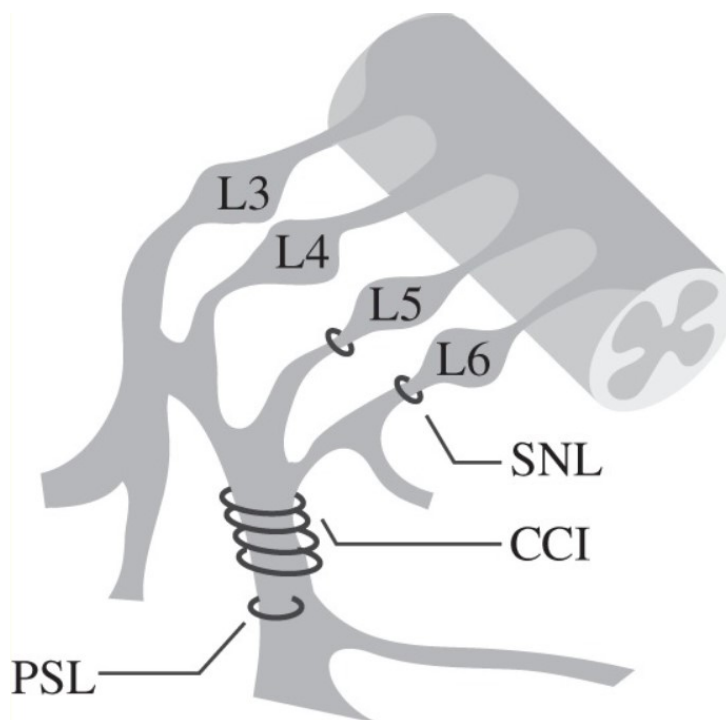
CB1 receptory jsou hojně exprimovány na centrálních zakončeních DRG vstupujících do superficiální oblasti zadního rohu míšního, kde se také vyskytují na míšních interneuronech (Farquhar-Smith et al., 2000). Vliv endokanabinoidních ligandů na nociceptivní signalizaci v míšním synaptickém přenosu aktivací CB1 receptorů se principy shoduje s inhibičním působením CB1 v periférii. Při patologických stavech však nastává rozdíl v působení CB1 receptorů exprimovaných na inhibičních interneuronech zadních rohů míšních. Úloha endokanabinoidů v bolestivé senzitivizaci byla pozorována v modelu sekundární hyperalgesie (tj. senzitivizace neporaněné oblasti tkáně v okolí poranění) a alodynii, při kterém nociceptivní neurony v zadním rohu míšním přijímají nociceptivní signály nejen od C vláken, ale i Aβ vláken. Za běžných okolností takovému přenosu z nenociceptivních vláken brání právě aktivita

inhibičních interneuronů. Zvýšený výlev glutamátu z primárních C vláken však snižuje inhibiční účinky endokanabinoidů na aktivitu CB1 receptorů exprimovaných na interneuronech. To následně snižuje inhibiční kontrolu přijímaných signálů interneurony. CB1 receptory a endokanabinoidy tak mohou být zapojeny do vzniku centrální senzitivace (Pernía-Andrade et al., 2009; Torsney a MacDermott, 2006).

5.4. ÚLOHA CB1 RECEPTORŮ ZA PATOLOGICKÝCH PODMÍNEK

Perspektivní oblastí výzkumu neuropatické bolesti je vliv rostlinných kanabinoidů, endokanabinoidů a syntetických kanabinoidů na kanabinoidní a nekanabinoidní receptory a role těchto receptorů v následné modulaci signálů způsobených patologickými procesy. Studie zabývající se rolí kanabinoidních receptorů v neuropatických stavech se převážně zaměřují na působení dvou nejvíce prozkoumaných endokanabinoidních ligandů: anandamid (AEA) a 2-arachidonoylglycerol (2-AG), v popředí zájmu jsou také enzymy, které tyto látky rozkládají, a to hydroláza amidů mastných kyselin (FAAH - *fatty-acid amide hydrolase*) pro anandamid a monoacylglycerol lipáza (MGL, často také MAGL), která hydrolizuje převážně 2-AG (Desroches et al., 2014).

Studie často vysvětlují prospěšný vliv agonistů kanabinoidních receptorů na neuropatickou bolest, kdy se vlivem poranění periferního nervu zvyšuje exprese CB1 a CB2 receptorů na neuronech. Metodou vyvolání neuropatického poranění může být model částečného podvázání v. *saphena magna* (SPL, *saphenous partial ligation*), které zvyšuje expresi kanabinoidních receptorů v oblasti tkání, které zásobuje (Walczak et al., 2005). Stejný trend byl pozorován i u koncentrací endokanabinoidů AEA a 2-AG, kdy byly naměřeny zvýšené lokální koncentrace endokanabinoidů v DRG míšního nervu, který byl částečně podvázán. Takovou metodou by bylo např. částečné podvázání sedacího nervu (PSL, *partial sciatic nerve ligation*) (Mitrirattanakul et al., 2006). Zvýšení aktivity endokanabinoidního systému, který si sám v případě potřeby endokanabinoidy tvoří, by tak mohlo mít neuroprotektivní funkci (Nagayama et al., 1999; Panikashvili et al., 2001)



Obrázek 6 - Schéma některých experimentálních modelů neuropatické bolesti na základě poranění periferních nervů. Chronické podvázání nervu (CCI, chronic constriction injury); Částečné podvázání sedacího nervu (PSL, partial sciatic nerve ligation); Segmentální podvázání míšního nervu (SNL, segmental spinal nerve ligation) (převzato a upraveno dle: Starowicz et al., 2012).

Jedním z nedostatků endokanabinoidů je krátká doba jejich působení, jelikož jsou rychle degradovány svými hydrolázami. Řešením tohoto problému se jeví farmakologická inaktivace FAAH a MGL hydroláz, čímž by se navýšila doba účinku i koncentrace endokanabinoidů (Adamson Barnes et al., 2016; Lichtman et al., 2004). Dle výsledků studie (Adamson Barnes et al., 2016) bylo výsledné potlačení alodynie působením duálního FAAH/MAGL inhibitoru JZL195 dokonce vyšší, než působení jednotlivých inhibitorů nebo dodání CB1 agonisty WIN 55,212-2.

S objevem alosterického vazebného místa CB1 receptorů se výzkum funkce receptoru rozšířil o malé syntetické molekuly schopné přímo ovlivňovat jeho aktivitu (Price et al., 2005). Jednou z výhod alosterické modifikace CB1 je absence psychoaktivních příznaků. Výsledky studie podávání samotného pozitivního alosterického modulátoru ZCZ011 ukázaly, že ZCZ011 kompletně zvrátil alodynii v modelu neuropatické bolesti vyvolané chronickou konstrikcí sedacího nervu (CCI) a částečně zvrátil alodynii vyvolanou karagenanem. Přípravek účinkoval po dlouhou dobu (až 12 hodin) a bez psychoaktivních účinků. ZCZ011 pravděpodobně zablokoval neuropatickou bolest zvýšením účinků endokanabinoidů modulací CB1 receptorů sedacího nervu (Ignatowska-Jankowska et al., 2015).

Důležitou součástí modulace nociceptivní bolesti CB1 receptory je i vliv endovaniloidního systému, a to především receptoru TRPV1. TRPV1 receptor je neselektivní iontový kanál, který má významnou úlohu v přenosu a modulaci nociceptivních signálů (Spicarova et al., 2014). Nejtypičtějším agonistou TRPV1 receptoru je kapsaicin, který se nachází např. v pálivých papričkách. TRPV1 má spolu s CB1 receptory společného agonistu, kterým je anandamid (AEA). Dalším faktorem v souhře těchto dvou receptorů je i koexprese receptorů na presynaptické buňce (Zygmunt et al., 1999; Chen et al., 2016; Nerandzic et al., 2018). Výsledky studií naznačují, že rozhodující faktor v aktivaci a inhibici obou receptorů AEA, je jeho aplikované množství. Zatímco při nižších koncentracích je aktivován pouze CB1 receptor, který potlačuje neuropatické projevy, vyšší koncentrace aktivují jak CB1 receptor, tak TRPV1. Anandamid tak ve vyšších koncentracích díky excitaci TRPV1 působí naopak pronociceptivně (Ahluwalia et al., 2003). Vliv anandamidu na excitaci TRPV1 receptorů se ještě zvyšuje, pokud jsou přítomny prozánětlivé mediátory bradykinin a prostaglandin E2 (Singh Tahim et al., 2005), které TRPV1 senzitivizují (shrnutí ve Spicarova a Palecek, 2009; Spicarova et al., 2014).

6. ZÁVĚR

Nocicepce je proces, který se stejnými základními principy sdílíme s živočichy napříč živočišnou říší. A přesto je to proces nesmírně komplexní, což dokládá skutečnost, že mechanismy, které předchozí kapitoly popisují, jsou pouze zlomkem z celé plejády interagujících struktur, modulací a integračních mechanismů.

Komplexnost bolesti a nocicepce se projevuje i v bolesti patologické, která se často od běžné bolesti liší modulací nociceptivních mechanismů a následnou změnou funkce. Patologická a chronická bolest doprovází mnohá onemocnění, léčiva (chemoterapeutika) či rekonvalescence po lékařských zákrocích. Následkem je výrazně zhoršená kvalita života pacienta.

Z tohoto důvodu je patologická bolest předmětem rozsáhlého vědeckého a klinického výzkumu, v kterém je zaznamenáván stále větší pokrok. Objasnění komplexních mechanismů vzniku a modulace patologické bolesti je klíčem k objevení způsobu, jak takové stavy potlačit a léčit. S využitím moderních technologií tak lze objevovat nové skupiny léčiv, stejně jako dosud neznámé využití pro již známé skupiny látek.

Jednou z takových skupin jsou kanabinoidy a jejich deriváty, které představují moderní a perspektivní alternativu v oblasti analgetik. V minulosti byl výzkum kanabinoidů negativně

ovlivněn přístupem široké veřejnosti k rostlině konopí seté (*Cannabis sativa*) a častými vedlejšími psychotropními účinky kanabinoidních léčiv. Současný farmaceutický výzkum však v kanabinoidním systému nachází nové možnosti pro zlepšení stavu pacientů trpících patologickými formami bolesti, jako je např. neuropatie či neuroinflamace.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ADAMSON BARNES, Nicholas S., Vanessa A. MITCHELL, Nicholas P. KAZANTZIS a Christopher W. VAUGHAN, 2016. Actions of the dual FAAH/MAGL inhibitor JZL195 in a murine neuropathic pain model. *British Journal of Pharmacology* [online]. **173**(1), 77–87. ISSN 14765381.
- AHLUWALIA, Jatinder, Laszlo URBAN, Stuart BEVAN a Istvan NAGY, 2003. Anandamide regulates neuropeptide release from capsaicin-sensitive primary sensory neurons by activating both the cannabinoid 1 receptor and the vanilloid receptor 1 in vitro. *European Journal of Neuroscience* [online]. **17**(12), 2611–2618. ISSN 0953816X.
- ALLEN NJ a BARRES BA, 2009. Glia-more than just brain glue. *Nature*. **457**(February), 675–677.
- AMIR, Ron a Marshall DEVOR, 1996. Chemically mediated cross-excitation in rat dorsal root ganglia. *Journal of Neuroscience* [online]. **16**(15), 4733–4741. ISSN 02706474.
- ARCILLA, Cristine K. a Prasanna TADI, 2020. *Neuroanatomy, Unmyelinated Nerve Fibers* [online]. B.m.: StatPearls Publishing [vid. 2021-04-05].
- *ARMSTRONG, Scott A. a Michael J. HERR, 2019. *Physiology, Nociception* [online]. B.m.: StatPearls Publishing [vid. 2021-03-06].
- AXELROD, Felicia B. a Max J. HILZ, 2003. Inherited Autonomic Neuropathies. *Seminars in Neurology* [online]. **23**(4), 381–390. ISSN 02718235.
- BASBAUM, Allan I., Diana M. BAUTISTA, Grégory SCHERRER a David JULIUS, 2009. Cellular and Molecular Mechanisms of Pain. *Cell* [online]. **139**(2), 267–284. ISSN 00928674.
- BICAN, Orhan, Alireza MINAGAR a Amy A. PRUITT, 2013. The Spinal Cord. A Review of Functional Neuroanatomy. *Neurologic Clinics* [online]. **31**(1), 1–18. ISSN 07338619.
- BONICA, J. J., 1953. The management of pain of cancer. *Journal - Michigan State Medical Society* [online] [vid. 2021-03-14].
- BOWSHER, David, 1976. Role of the reticular formation in responses to noxious stimulation. *Pain* [online]. **2**(4), 361–378. ISSN 03043959.
- BUDAI, Dénes, 2000. Neurotransmitters and receptors in the dorsal horn of the spinal cord. *Acta Biologica Szegediensis*. **44**(1–4), 21–38. ISSN 03246523.
- *CERVERO, Fernando, 2010. Visceral versus somatic pain: Similarities and differences. *Digestive Diseases* [online]. **27**(SUPPL. 1), 3–10. ISSN 02572753.
- CERVERO, Fernando a Jennifer M.A. LAIRD, 1999. Visceral pain. *Lancet* [online]. **353**(9170), 2145–2148. ISSN 01406736.
- CHAPMAN, Victoria, 1999. The cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR141716A, selectively facilitates nociceptive responses of dorsal horn neurones in the rat. *British Journal of Pharmacology* [online]. **127**(8), 1765–1767. ISSN 00071188.
- *CHEN, Gang, Chul Kyu PARK, Rou Gang XIE, Temugin BERTA, Maiken NEDERGAARD a Ru Rong JI, 2014. Connexin-43 induces chemokine release from spinal cord astrocytes to maintain late-phase neuropathic pain in mice. *Brain* [online].

137(8), 2193–2209. ISSN 14602156.

CHEN, Jie, Angelika VARGA, Srikumaran SELVARAJAH, Agnes JENES, Beatrix DIENES, Joao SOUSA-VALENTE, Akos KULIK, Gabor VERESS, Susan D. BRAIN, David BAKER, Laszlo URBAN, Ken MACKIE a Istvan NAGY, 2016. Spatial Distribution of the Cannabinoid Type 1 and Capsaicin Receptors May Contribute to the Complexity of Their Crosstalk. *Scientific Reports* [online]. **6**(May 2015), 1–18. ISSN 20452322.

*DESROCHES, Julie, Sophie CHARRON, Jean François BOUCHARD a Pierre BEAULIEU, 2014. Endocannabinoids decrease neuropathic pain-Related behavior in mice through the activation of one or both peripheral CB1 and CB2 receptors. *Neuropharmacology* [online]. **77**, 441–452. ISSN 18737064.

DEVOR, Marshall, 1999. Unexplained peculiarities of the dorsal root ganglion. *Pain* [online]. **82**(SUPPL.1), 27–35. ISSN 03043959.

FARQUHAR-SMITH, W. Paul, Michaela EGERTOVÁ, Elizabeth J. BRADBURY, Stephen B. MCMAHON, Andrew S.C. RICE a Maurice R. ELPHICK, 2000. Cannabinoid CB1 receptor expression in rat spinal cord. *Molecular and Cellular Neurosciences* [online]. **15**(6), 510–521. ISSN 10447431.

*FREUND, Tamás F., István KATONA a Daniele PIOMELLI, 2003. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiological Reviews* [online]. **83**(3), 1017–1066. ISSN 00319333.

*HALL, John, 2010. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology - 12th Edition. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology - 12th Edition* [online] [vid. 2021-04-03].

HERKENHAM, Miles, Allison B. LYNN, Mark D. LITTLE, M. Ross JOHNSON, Lawrence S. MELVIN, Brian R. DE COSTA a Kenner C. RICE, 1990. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. **87**(5), 1932–1936. ISSN 00278424.

HOCHMAN, Shawn, 2007. Spinal cord. *Current Biology* [online]. **17**(22), 950–955. ISSN 09609822.

HOHMANN, A. G. a M. HERKENHAM, 1999. Localization of central cannabinoid CB1 receptor messenger RNA in neuronal subpopulations of rat dorsal root ganglia: A double-label in situ hybridization study. *Neuroscience* [online]. **90**(3), 923–931. ISSN 03064522.

IANNOTTI, Fabio Arturo, Vincenzo DI MARZO a Stefania PETROSINO, 2016. Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. *Progress in Lipid Research* [online]. **62**, 107–128. ISSN 18732194.

IGNATOWSKA-JANKOWSKA, Bogna M., Gemma L. BAILLIE, Steven KINSEY, Molly CROWE, Sudeshna GHOSH, Robert A. OWENS, Imad M. DAMAJ, Justin POKLIS, Jenny L. WILEY, Matteo ZANDA, Chiara ZANATO, Iain R. GREIG, Aron H. LICHTMAN a Ruth A. ROSS, 2015. A Cannabinoid CB 1 Receptor-Positive Allosteric Modulator Reduces Neuropathic Pain in the Mouse with No Psychoactive Effects. *Neuropsychopharmacology* [online]. **40**(13), 2948–2959. ISSN 1740634X.

- IRVING, A. J., A. A. COUTTS, J. HARVEY, M. G. RAE, K. MACKIE, G. S. BEWICK a R. G. PERTWEE, 2000. Functional expression of cell surface cannabinoid CB1 receptors on presynaptic inhibitory terminals in cultured rat hippocampal neurons. *Neuroscience* [online]. **98**(2), 253–262. ISSN 03064522.
- *JENSEN, Troels S. a Nanna B. FINNERUP, 2014. Allodynia and hyperalgesia in neuropathic pain: Clinical manifestations and mechanisms. *The Lancet Neurology* [online]. **13**(9), 924–935. ISSN 14744465.
- JI, Ru-rong, Alexander CHAMESSIAN a Yu-qiu ZHANG, 2016. Pain regulation by non-neuronal cells and inflammation. *Pain Research*. **354**(6312), 572–577. ISSN 0036-8075.
- JI, Ru Rong, Temugin BERTA a Maiken NEDERGAARD, 2013. Glia and pain: Is chronic pain a gliopathy? *Pain* [online]. **154**(SUPPL. 1), S10–S28. ISSN 18726623.
- *KANDEL, Eric R., James H. SCHWARTZ a Thomas M. JESSELL, 2021. Principles of Neural Science, Sixth Edition [online]. [vid. 2021-04-08].
- KENDALL, Debra A. a Guillermo A. YUDOWSKI, 2017. Cannabinoid receptors in the central nervous system: Their signaling and roles in disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience* [online]. **10**(January), 1–10. ISSN 16625102.
- *KEVETTER, Golda A., Lawrence H. HABER, Robert P. YEZIERSKI, Jin Mo CHUNG, Richard F. MARTIN a William D. WILLIS, 1982. Cells of origin of the spinoreticular tract in the monkey. *Journal of Comparative Neurology* [online]. **207**(1), 61–74. ISSN 10969861.
- KOLTZENBURG, Martin, H. Erik TOREBJÖRK a Lis Karin WAHREN, 1994. Nociceptor modulated central sensitization causes mechanical hyperalgesia in acute chemogenic and chronic neuropathic pain. *Brain* [online]. **117**(3), 579–591. ISSN 00068950.
- LARSON, A. A. a A. J. BEITZ, 1988. Glycine potentiates strychnine-induced convulsions: Role of NMDA receptors. *Journal of Neuroscience* [online]. **8**(10), 3822–3826. ISSN 02706474.
- LICHTMAN, Aron H., Donmienne LEUNG, Christopher C. SHELTON, Alan SAGHATELIAN, Christophe HARDOUIN, Dale L. BOGER a Benjamin F. CRAVATT, 2004. Reversible inhibitors of fatty acid amide hydrolase that promote analgesia: Evidence for an unprecedented combination of potency and selectivity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* [online]. **311**(2), 441–448. ISSN 00223565.
- LIGHT, A. R., D. L. TREVINO a E. R. PERL, 1979. Morphological features of functionally defined neurons in the marginal zone and substantia gelatinosa of the spinal dorsal horn. *Journal of Comparative Neurology* [online]. **186**(2), 151–171. ISSN 10969861.
- LOESER, John D. a Rolf Detlef TREEDE, 2008. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain* [online]. **137**(3), 473–477. ISSN 03043959.
- *M.D. FISHMAN, SCOTT M. (EDITOR), M.D. BALLANTYNE, JANE C. (EDITOR), M.D. RATHMELL, James P., 2012. Bonica's Management of Pain - Scott M. Fishman. *Bonica's Management of Pain* [online]. [vid. 2021-04-03].
- *MILLAN, Mark J., 1999. The induction of pain: An integrative review. *Progress in Neurobiology* [online]. **57**(1), 1–164. ISSN 03010082.

- MITRIRATTANAKUL, Somsak, Navapoln RAMAKUL, Andre V GUERRERO, Yoshizo MATSUKA, Takeshi ONO, Hirotate IWASE, Ken MACKIE, Kym F FAULL a Igor SPIGELMAN, 2006. Site-specific increases in peripheral cannabinoid receptors and their endogenous ligands in a model of neuropathic pain [online]. **126**, 102–114.
- NAGAYAMA, T., A. D. SINOR, R. P. SIMON, J. CHEN, S. H. GRAHAM, K. JIN a D. A. GREENBERG, 1999. Cannabinoids and neuroprotection in global and focal cerebral ischemia and in neuronal cultures. *Journal of Neuroscience* [online]. **19**(8), 2987–2995. ISSN 02706474.
- *NERANDZIC, Vladimir, Petra MROZKOVA, Pavel ADAMEK, Diana SPICAROVA, Istvan NAGY a Jiri PALECEK, 2018. Peripheral inflammation affects modulation of nociceptive synaptic transmission in the spinal cord induced by N-arachidonoylphosphatidylethanolamine. *British Journal of Pharmacology* [online]. **175**(12), 2322–2336. ISSN 14765381.
- OHNO-SHOSAKU, Takako, Takashi MAEJIMA a Masanobu KANO, 2001. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron* [online]. **29**(3), 729–738. ISSN 08966273.
- PANIKASHVILI, David, Constantina SIMEONIDOU, Shimon BEN-SHABAT, Lumír HANUŠ, Aviva BREUER, Raphael MECHOULAM a Esther SHOHAMI, 2001. An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. *Nature* [online]. **413**(6855), 527–531. ISSN 00280836.
- PANNESE, Ennio, Patrizia PROCACCI, Emilio BERTI a Maria LEDDA, 1999. The perikaryal surface of spinal ganglion neurons: Differences between domains in contact with satellite cells and in contact with the extracellular matrix. *Anatomy and Embryology* [online]. **199**(3), 199–206. ISSN 03402061.
- PERNÍA-ANDRADE, Alejandro J., Ako KATO, Robert WITSCHI, Rita NYILAS, István KATONA, Tamás F. FREUND, Masahiko WATANABE, Jörg FILITZ, Wolfgang KOPPERT, Jürgen SCHÜTTLER, Guangchen JI, Volker NEUGEBAUER, Giovanni MARSICANO, Beat LUTZ, Horacio VANEGAS a Hanns Ulrich ZEILHOFER, 2009. Spinal endocannabinoids and CB1 receptors mediate C-fiber-induced heterosynaptic pain sensitization. *Science* [online]. **325**(5941), 760–764. ISSN 00368075.
- PERTWEE, Roger G., 1997. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacology and Therapeutics* [online]. **74**(2), 129–180. ISSN 01637258.
- PRICE, Martin R., Gemma L. BAILLIE, Adèle THOMAS, Lesley A. STEVENSON, Morag EASSON, Richard GOODWIN, Adèle MCLEAN, Lorraine MCINTOSH, Gillian GOODWIN, Glenn WALKER, Paul WESTWOOD, Julia MARRS, Fiona THOMSON, Phillip COWLEY, Arthur CHRISTOPOULOS, Roger G. PERTWEE a Ruth A. ROSS, 2005. Allosteric modulation of the Cannabinoid CB1 receptor. *Molecular Pharmacology* [online]. **68**(5), 1484–1495. ISSN 0026895X.
- RICHARDSON, Jennelle Durnett, Lin AANONSEN a Kenneth M. HARGREAVES, 1997. SR 141716A, a cannabinoid receptor antagonist, produces hyperalgesia in untreated mice. *European Journal of Pharmacology* [online]. **319**(2–3), 4–5. ISSN 00142999.
- ROSENOW, Joshua M. a Jaimie M. HENDERSON, 2003. Anatomy and physiology of chronic pain. *Neurosurgery Clinics of North America* [online]. **14**(3), 445–462. ISSN 10423680.

- SAÑUDO-PENˆA, M. Clara, Nicole M. STRANGMAN, Ken MACKIE, J. Michael WALKER a Tsou KANG, 1999. *CB1 receptor localization in rat spinal cord and roots, dorsal root ganglion, and peripheral nerve*. 1999. ISSN 02539756.
- SCHAIBLE, H. G. a R. F. SCHMIDT, 1985. Effects of an experimental arthritis on the sensory properties of fine articular afferent units. *Journal of Neurophysiology* [online]. **54**(5), 1109–1122. ISSN 00223077.
- *SCHOLZ, Joachim, Nanna B FINNERUP, Nadine ATTAL, Qasim AZIZ, Ralf BARON, Michael I BENNETT, Rafael BENOLIEL, Milton COHEN, Giorgio CRUCCU, Karen D DAVIS, Stefan EVERS, Michael FIRST, Maria Adele GIAMBERARDINO, Stein KAASA, Beatrice KORWISI, Eva KOSEK, Patricia LAVAND’HOMME, Michael NICHOLAS, Turo NURMIKKO, Serge PERROT, Srinivasa N RAJA, Andrew S C RICE, Michael C ROWBOTHAM, Stephan SCHUG, David M SIMPSON AA, Blair H SMITH, Peter SVENSSON, Johan W S VLAEYEN, Shuu-Jiun WANG, Antonia BARKE, Winfried RIEF a Rolf-Detlef TREEDE, 2019. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic neuropathic pain Classification Committee of the Neuropathic Pain Special Interest Group (NeuPSIG), and Task Force for the Classification of Chronic Pain of the International Association for the. *Pain* [online].
- SCHOLZ, Joachim a Clifford J. WOOLF, 2007. The neuropathic pain triad: Neurons, immune cells and glia. *Nature Neuroscience* [online]. **10**(11), 1361–1368. ISSN 10976256.
- *SINGH TAHIM, A., P. SˆANTHA a I. NAGY, 2005. Inflammatory mediators convert anandamide into a potent activator of the vanilloid type 1 transient receptor potential receptor in nociceptive primary sensory neurons. *Neuroscience* [online]. **136**(2), 539–548. ISSN 03064522.
- *SPICAROVA, D., V. NERANDZIC a J. PALECEK, 2014. Update on the role of spinal cord TRPV1 receptors in pain modulation. *Physiological Research* [online]. **63**(SUPPL.). ISSN 08628408.
- *SPICAROVA, Diana a Jiri PALECEK, 2009. The role of the TRPV1 endogenous agonist N-oleoyldopamine in modulation of nociceptive signaling at the spinal cord level. *Journal of Neurophysiology* [online]. **102**(1), 234–243. ISSN 00223077.
- STAROWICZ, Katarzyna a David P. FINN, 2017. *Cannabinoids and Pain: Sites and Mechanisms of Action* [online]. 1. vyd. B.m.: Elsevier Inc. ISSN 15578925.
- STAROWICZ, Katarzyna, Barbara PRZEWLOCKA, Phil Trans R Soc B, Katarzyna STAROWICZ a Barbara PRZEWLOCKA, 2012. Modulation of neuropathic-pain-related behaviour by the spinal endocannabinoid / endovanilloid system Modulation of neuropathic-pain-related behaviour by the spinal endocannabinoid / endovanilloid system [online]. 3286–3299.
- TORSNEY, Carole a Amy B. MACDERMOTT, 2006. Disinhibition opens the gate to pathological pain signaling in superficial neurokinin 1 receptor-expressing neurons in rat spinal cord. *Journal of Neuroscience* [online]. **26**(6), 1833–1843. ISSN 02706474.
- TRACEY, W. Daniel, 2017. Nociception. *Current Biology* [online]. **27**(4), R129–R133. ISSN 09609822.
- *TRAUB, R. J. a L. M. MENDELL, 1988. The spinal projection of individual identified A-δ- and C-fibers. *Journal of Neurophysiology* [online]. **59**(1), 41–55. ISSN 00223077.

- TRAUB, Richard J., Mathius J. SEDIVEC a Lorne M. MENDELL, 1986. The rostral projection of small diameter primary afferents in Lissauer's tract. *Brain Research* [online]. **399**(1), 185–189. ISSN 00068993.
- TSOU, K., S. BROWN, M.C. SAÑUDO-PEÑA, K. MACKIE a J. M. WALKER, 1998. IMMUNOHISTOCHEMICAL DISTRIBUTION OF CANNABINOID CB1 RECEPTORS IN THE RAT CENTRAL NERVOUS SYSTEM. *Neuroscience*.
- TSUDA, Makoto, 2016. Microglia in the spinal cord and neuropathic pain. *Journal of Diabetes Investigation* [online]. **7**(1), 17–26. ISSN 20401124.
- VANDEWAUW, Ine, Katrien DE CLERCQ, Marie MULIER, Katharina HELD, Silvia PINTO, Nele VAN RANST, Andrei SEGAL, Thierry VOET, Rudi VENNEKENS, Katharina ZIMMERMANN, Joris VRIENS a Thomas VOETS, 2018. A TRP channel trio mediates acute noxious heat sensing. *Nature* [online]. **555**(7698), 662–666. ISSN 14764687.
- WALCZAK, J, V PICHETTE a F LEBLOND, 2005. BEHAVIORAL , PHARMACOLOGICAL AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE SAPHENOUS NERVE PARTIAL LIGATION : A NEW MODEL OF NEUROPATHIC PAIN [online]. **132**, 1093–1102.
- WILLIS, W. D., 1985. Nociceptive pathways: anatomy and physiology of nociceptive ascending pathways. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological sciences* [online]. **308**(1136), 253–270. ISSN 09628436.
- WOLLER, Sarah A., Kelly A. EDDINGER, Maripat CORR a Tony L. YAKSH, 2017. An overview of pathways encoding nociception. *Clinical and Experimental Rheumatology*. **35**(5), S40–S46. ISSN 1593098X.
- WOOLF, Clifford J, 2010. Review series introduction What is this thing called pain? *The Journal of Clinical Investigation* [online]. **120**.
- YAKSH, T. L., 1981. The antinociceptive effects of intrathecally administered levonantradol and desacetyllevonantradol in the rat. *Journal of clinical pharmacology* [online]. **21**(8-9 Suppl). ISSN 00912700.
- ZARPELON, Ana C., Francielle C. RODRIGUES, Alexandre H. LOPES, Guilherme R. SOUZA, Thacyana T. CARVALHO, Larissa G. PINTO, Damo XU, Sergio H. FERREIRA, Jose C. ALVES-FILHO, Iain B. MCINNES, Bernhard RYFFEL, Valérie F.J. QUESNIAUX, Flora REVERCHON, Stéphane MORTAUD, Arnaud MENUET, Foo Y. LIEW, Fernando Q. CUNHA, Thiago M. CUNHA a Waldiceu A. VERRI, 2016. Spinal cord oligodendrocyte-derived alarmin IL-33 mediates neuropathic pain. *FASEB Journal* [online]. **30**(1), 54–65. ISSN 15306860.
- ZYGMUNT, Peter M., Jesper PETERSSON, David A. ANDERSSON, Huai Hu CHUANG, Morten SØRGÅRD, Vincenzo DI MARZO, David JULIUS a Edward D. HÖGESTÄTT, 1999. Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* [online]. **400**(6743), 452–457. ISSN 00280836.

* - značení sekundárních citací